

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI MERAH (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) TERHADAP KADAR SOD DAN MDA JANTUNG TIKUS MODEL DIABETES MELITUS TIPE 2

St. Khalidiyah, Fenti Kusumawardhani Hidayah, Yudi Purnomo*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

*Corresponding author email : yudi.purnomo@unisma.ac.id
MT. Haryono 193 Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65144 Tel. (0341) 558959

ABSTRAK

Pendahuluan: Hiperglikemia pada diabetes melitus (DM) meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang berperan terhadap komplikasi kardiomiopati diabetik. Daun gedi merah dikenal memiliki efek antioksidan dan antihiperglikemia sehingga diharapkan dapat menghambat kerusakan oksidatif pada DM. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun gedi merah dalam mencegah kerusakan oksidatif pada DM dengan mengamati kadar Superoxide Dismutase (SOD) dan *Malondialdehyde* (MDA) jantung tikus model DM.

Metode: Tikus *Sprague Dawley* jantan berusia 4-6 minggu dibedakan menjadi 2 kelompok kontrol yakni kelompok kontrol normal (KN) dan kelompok kontrol diabetes melitus (KDM) dan 3 kelompok perlakuan yakni kelompok ekstrak etanol daun gedi merah (EEDGM) dengan dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB (n=5 ekor). Hewan coba diinduksi diet tinggi lemak-fruktosa (DTLF) dan *Streptozotocin* (STZ) 25 mg/kgBB intraperitoneal *multiple dose*. Selanjutnya diberikan EEDGM 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB. Pengukuran kadar SOD dan MDA jantung menggunakan Elisa SOD *rat kit* dan Elisa MDA *rat kit*. Analisa data menggunakan One Way Anova dilanjutkan dengan uji BNT ($p < 0,05$).

Hasil: Pemberian EEDGM dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB menghambat penurunan kadar SOD jantung berturut-turut sekitar 20%, 35% dan 20% dibandingkan kelompok KDM ($p < 0,05$) sementara kadar MDA jantung diturunkan kurang lebih sekitar 5%, 6%, dan 10% ($p < 0,05$). Induksi DTLF dan STZ pada kelompok KDM menurunkan kadar SOD jantung 1,5 kali lipat dan meningkatkan MDA jantung 2 kali lipat dibandingkan KN ($p < 0,05$).

Kesimpulan: Pemberian EEDGM 200 – 800 mg/kgBB menghambat penurunan kadar SOD jantung dan menghambat peningkatan kadar MDA jantung tikus model DM.

Kata Kunci : *streptozotocin*, diet tinggi lemak, diet tinggi fruktosa, stres oksidatif, diabetes, *Abelmoschus manihot* (L.) Medik

EFFECT ETHANOL EXTRACT OF *Abelmoschus manihot* (L.) Medik ON CARDIAC SOD LEVELS AND CARDIAC MDA LEVELS IN DIABETIC RAT MODEL

ABSTRACT

Introduction: Hyperglycemic on diabetes melitus contribute to increase *reactive oxygen species* (ROS) contribute cardiomyopathy diabetic complication. *Abelmoschus manihot* (L.) Medik have been known as antioxidant effect and antihyperglycemia, it is expected to inhibit oxidative stress in DM. This research aimed to know about effect ethanol extract of red *Abelmoschus manihot* (L.) Medik on cardiac sod level and cardiac mda level in diabetic rat model.

Method: This study used *Sprague Dawley* male rats 6 weeks old, which were divided into 2 control groups (normal control and diabetes mellitus control groups) and 3 treatment groups (Ethanol extract of *Abelmoschus manihot* (L.) Medik dose 200 mg/kgBB (P1), 400 mg/kgBB (P2) and 800 mg/kgBB (P3) groups) (n=5 rats). The rats were induced on a high-fat-fructose diet (HFFD) and STZ 25 mg/kgBB intraperitoneal multiple dose. Subsequently, ethanol extract of *Abelmoschus manihot* (L.) Medik were given. Cardiac SOD and MDA levels were measured by using ELISA SOD and MDA rat kit. Data analyzed by using One Way ANOVA analysis and LSD ($p < 0,05$).

Result : Ethanol extract of *Abelmoschus manihot* (L.) Medik 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB and 800 mg/kgBB increase cardiac SOD percentage approximately 20%, 35% dan 20% compared by diabetes mellitus control group ($p < 0,05$) while the level of cardiac MDA decrease approximately 5%, 6%, dan 10% ($p < 0,05$). The induction of HFFD and STZ in the diabetes mellitus control group cardiac SOD levels one and half higher and cardiac MDA levels twice as low than normal control group ($p < 0,05$).

Conclusion: According to the result above, Ethanol extract of *Abelmoschus manihot* (L.) Medik 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB can increase cardiac SOD levels and decrease cardiac MDA levels in diabetic rat model.

Keywords: *streptozotocin*, high fat diet, high fructose diet, oxidative stress, diabetes, *Abelmoschus manihot* (L.) Medik.

Formatted: Font: 10 pt, Italic

Formatted: Font: 10 pt, Italic

Formatted: Font: 10 pt, Italic

Formatted: Font: 10 pt, Italic

PENDAHULUAN

Komplikasi kardiomiopati diabetik masih menjadi permasalahan kesehatan di dunia. Kardiomiopati diabetik merupakan komplikasi diabetes melitus (DM) yang menimbulkan perubahan struktur dan fungsi miokardium¹. Prevalensi timbulnya komplikasi kardiomiopati pada pasien DM sebesar 9,9% dan menjadikannya sebagai komplikasi paling sering pada pasien DM². Beberapa bentuk dari komplikasi kardiomiopati diabetik antara lain penyakit jantung koroner dan gagal jantung¹. Berdasarkan *United Kingdom National Diabetes Audit* pada tahun 2015-2016, jumlah kasus komplikasi kardiomiopati diabetik sebesar 2,7 juta. Setengah dari total kematian penderita diabetes melitus disebabkan oleh kardiomiopati diabetik³.

Kardiomiopati diabetik didasari oleh kondisi stres oksidatif. Peningkatan kadar glukosa darah kronik pada pasien DM meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat radikal bebas⁴. Peningkatan ROS tanpa diimbangi dengan pertahanan antioksidan yang memadai menimbulkan stres oksidatif⁵. Keadaan stress oksidatif ditandai dengan penurunan antioksidan endogen lini pertama yaitu *Superoxide Dismutase* (SOD). Stress oksidatif juga dapat menimbulkan peroksidasi lipid membran sel dan membentuk produk akhir yang stabil berupa *Malondialdehyde* (MDA)⁷. Peroksidasi lipid membran sel menyebabkan penurunan fungsi membran sel sebagai tempat difusi molekul antar sel sehingga meningkatkan risiko terjadinya jejas dan kematian sel⁸. Kondisi stres oksidatif yang ditandai dengan penurunan SOD dan peningkatan kadar MDA menimbulkan kerusakan oksidatif yang berperan terhadap terjadinya kardiomiopati diabetik.

Salah satu bahan alam yang dapat dipakai sebagai pengobatan anti diabetes adalah daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik). Daun gedi merah digunakan oleh masyarakat Sulawesi Utara sebagai obat tradisional untuk pengobatan kolesterol, tekanan darah tinggi, dan kencing manis⁹. Pada uji preklinik, daun gedi merah terdapat kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin yang bekerja sebagai antidiabetik^{7,10}. Hingga saat ini penelitian tentang daun gedi merah dalam menghambat komplikasi kardiomiopati diabetik belum pernah dilakukan. Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan penelitian tentang potensi daun gedi merah untuk menghambat kardiomiopati diabetik dengan mengamati kadar *Malondialdehyde* (MDA) dan *Superoxide Dismutase* (SOD).

METODE

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratorium secara *in vivo* dengan *control group post test only design*. Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari komite etik

penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor No. 028-KEP UB tahun 2020. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus jantan galur *sprague dawley*. Usia tikus 4-6 minggu dengan berat badan sekitar 180-200 gram. Tikus dibagi menjadi 2 kelompok kontrol yang terdiri dari KN dan KDM, serta 3 kelompok perlakuan yakni kelompok EEDGM 200 mg/kgBB, EEDGM 400 mg/kgBB, dan EEDGM 800 mg/kgBB.

Pembuatan Tikus Model Diabetes Melitus

Pembuatan tikus model DM dilakukan dengan induksi diet tinggi lemak fruktosa (DTLF) dan induksi streptozotocin (STZ). DTLF terdiri dari kuning telur (4%), minyak kambing (6,5%), minyak babi (6,5%), asam kolat (0,2 %) , pakan ayam (82,8%), dan air secukupnya yang diberikan 25 gram/hari setiap sore¹¹. Pemberian fruktosa 20% terdiri dari 200 ml fruktosa dicampur kedalam 1000 ml air. Fruktosa diberikan 40ml/hari *ad libitum*. Induksi STZ dilakukan setelah memasuki minggu ke-4 pemberian DTLF, dengan dosis STZ sebanyak 25 mg/kgBB secara intraperitoneal *multiple dose*. Pengukuran kadar gula darah puasa dilakukan 72 jam pasca injeksi¹².

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah

Serbuk Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) diperoleh dari Balai Materia Medika, Batu, Jawa Timur, dengan surat keterangan determinasi nomer 074/193A /102.7/2020. Dosis ekstrak etanol daun gedi merah yang digunakan adalah 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, dan 800 mg/kgBB¹³. Ekstraksi daun gedi merah menggunakan metode soxhletasi. Serbuk daun gedi merah ditimbang sebanyak 25 gram kemudian dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan kedalam timbal. Labu alas kosong diisi dengan batu didih dan 250 ml etanol 96%. Timbal yang berisi sampel disambungkan dengan labu alas dan ditempatkan pada alat pemanas serta kondensor. pelarut dipanaskan sesuai dengan titik didih pelarut. Hasil ekstraksi diuap dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan bentuk pasta.

Preparasi Sampel Jantung

Hewan coba dikorbankan dengan injeksi ketamin 0,2 ml intramuskuler, kemudian tikus dibedah untuk diambil organ jantung. Jantung dibilas menggunakan larutan *Sodium Chloride* (NaCl). Jantung ditimbang dengan berat sekitar 100 mg. Sampel dibilas menggunakan larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) kemudian dihancurkan menggunakan mortar dan ditambahkan cairan buffer SOD untuk pemeriksaan SOD dan cairan PBS untuk pemeriksaan MDA dengan perbandingan 100 mg : 1000 ml. Sampel yang telah larut dimasukkan dalam

tabung eppendorf dan dicentrifuge dalam 4000 rpm selama 15 menit untuk mendapatkan supernatan.

Pengukuran Kadar SOD Jantung

Pengukuran SOD jantung menggunakan elisa *SOD rat kit*. Larutan standar atau sampel sebanyak 50 μ L dimasukan kedalam *well* kemudian ditambahkan *Biotinylated Detection Ab* sebanyak 50 μ L, campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit kemudian diaspirasi. Larutan *wash buffer* ditambahkan sebanyak 350 μ L dan dicuci 3 kali. Setelah itu, *HRP Conjugate Working Solution* 100 μ L ditambahkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, diaspirasi dan dicuci 5 kali. Selanjutnya, *substrat reagent* ditambahkan sebanyak 90 μ L dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. *Stop solution* ditambahkan sebanyak 50 μ L. Nilai absorbansi sampel diukur menggunakan *microplate reader* pada $\lambda = 450$ nm.

Pengukuran Kadar MDA Jantung

Pengukuran MDA jantung menggunakan

elisa *MDA rat kit*. Larutan standar atau sampel sebanyak 50 μ L dimasukan kedalam *well* kemudian ditambahkan *Biotinylated Detection Ab* sebanyak 50 μ L, campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit kemudian diaspirasi. Larutan *wash buffer* ditambahkan sebanyak 350 μ L dan dicuci 3 kali. Setelah itu, *HRP Conjugate Working Solution* 100 μ L ditambahkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, diaspirasi dan dicuci 5 kali. Selanjutnya, *substrat reagent* ditambahkan sebanyak 90 μ L dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. *Stop solution* ditambahkan sebanyak 50 μ L. Nilai absorbansi sampel diukur menggunakan *microplate reader* pada $\lambda = 450$ nm.

Analisa Data

Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas dan homogenitas, kemudian dilakukan uji beda menggunakan *one way ANOVA* dan dilanjutkan uji *least significance different* (LSD). Analisa data dilakukan dengan memakai software statistik SPSS.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini didapatkan hasil karakteristik hewan coba yang tercantum dalam **tabel 1**.

Tabel 1. Karakteristik sampel

n=5	KN	KDM	EEDGM 200 mg/KGBB	EEDGM 400 mg/KGBB	EEDGM 800 mg/KGBB
BB pra perlakuan (g)	242.8 \pm 12.7	230.4 \pm 11.5	246.8 \pm 18.9	256.2 \pm 32.20	253.0 \pm 25.08
BB pasca perlakuan (g)	335.4 \pm 34.9	279.2 \pm 54.0	304.80 \pm 52.0	324.8 \pm 24.1	315.5 \pm 43.0
Δ BB (g)	92.6 \pm 27.6	48.8 \pm 44.5	58.0 \pm 48.9	68.6 \pm 33.2	80.6 \pm 10.7
Asupan Pakan (%)	89.6 \pm 9.6	84.8 \pm 7.7	77.6 \pm 15.1	86.4 \pm 9.21	81.6 \pm 12.2
KGDP awal (mg/dL)	74.6 \pm 3.0	85.0 \pm 8.5	83.2 \pm 5.3	87.6 \pm 3.9	81.6 \pm 3.2
KGDP pra perlakuan (mg/dL)	100.0 \pm 7.9	182.6 \pm 43.1	171.6 \pm 11.6	172.2 \pm 26.6	163.6 \pm 9.9
KGDP pasca perlakuan (mg/dL)	111.6 \pm 5.9 ^a	149.8 \pm 11.1 ^b	130.6 \pm 4.8 ^c	120.8 \pm 11.4 ^d	113.8 \pm 5.7 ^e

Keterangan:

Data dalam mean \pm SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, BB: Berat Badan, Δ BB: selisih BB post treat dan pre treat, KGDP : Kadar Glukosa Darah Puasa, KN: Kontrol Negatif, KDM: Kontrol Diabetes Melitus, EEDGM: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah. Notasi yang berbeda menunjukkan signifikansi ($p < 0.05$).

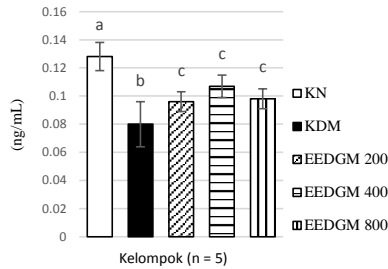
Berdasarkan tabel 1, berat badan pra perlakuan relatif tidak berbeda antar kelompok. Berat badan pasca perlakuan cenderung lebih meningkat pada semua kelompok dibandingkan berat badan pra perlakuan. Kelompok EEDGM menunjukkan berat badan yang lebih tinggi dibandingkan KDM. Berat badan pada kelompok normal lebih besar dibandingkan KDM.

Asupan pakan terendah terdapat pada kelompok EEDGM 200 mg/kgBB dan tertinggi pada kelompok KN. KGDP pra perlakuan cenderung meningkat pada kelompok DM dan perlakuan setelah induksi DM. KGDP pasca perlakuan pada kelompok EEDGM lebih kecil dibandingkan kelompok KN. KGDP pasca perlakuan pada kelompok KDM lebih tinggi dibandingkan KN.

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah terhadap Kadar SOD Jantung Tikus Model Diabetes Melitus

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terhadap kadar SOD jantung tikus model Diabetes dapat dilihat pada gambar 1. Induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ menurunkan kadar SOD jantung secara signifikan sekitar 40% dibandingkan kelompok kontrol normal ($p < 0.05$). Pemberian EEDGM dosis 200 - 800 mg/kgBB secara signifikan menghambat penurunan SOD jantung tikus model DM berturut-turut sekitar 20%, 35% dan 20% dibandingkan KDM ($p < 0.05$). Tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok EEDGM 200 - 800 mg/kgBB dalam menghambat penurunan kadar SOD jantung

($p > 0,05$). Kadar SOD pada kelompok EEDGM 200 - 800 mg/kgBB lebih rendah sekitar 15%-25% dibandingkan KN ($p < 0,05$).

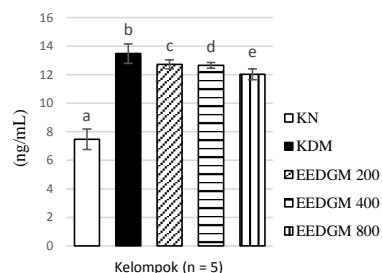


Gambar 1. Histogram kadar SOD jantung tikus model diabetes yang telah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah

Keterangan:

Data dalam mean \pm SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, KN: Kontrol Negatif, KDM: Kontrol Diabetes Melitus, EEDGM 200,400,800: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB, huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD)

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah terhadap Kadar MDA Jantung Tikus Model Diabetes Melitus



Gambar 2. Histogram kadar MDA jantung tikus model diabetes yang telah diberikan ekstrak etanol daun gedi merah

Keterangan:

Data dalam mean \pm SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, KN: Kontrol Negatif, KDM: Kontrol Diabetes Melitus, EEDGM 200,400,800: pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB, huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, LSD)

Efek Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) terhadap kadar MDA jantung tikus model Diabetes dapat dilihat pada gambar 2. Induksi DM dengan pemberian DTLF dan STZ meningkatkan kadar MDA jantung secara signifikan sekitar 80% dibandingkan kelompok kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian EEDGM dosis 200 - 800 mg/kg BB signifikan

menurunkan MDA jantung berturut-turut 5%, 6%, dan 10% dibandingkan KDM ($p < 0,05$). Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok EEDGM 200 - 800 mg/kgBB dalam menurunkan kadar MDA jantung ($p < 0,05$). Kadar MDA pada kelompok EEDGM 200 - 800 mg/kgBB lebih tinggi sekitar 60%-70% dibandingkan KN ($p < 0,05$).

PEMBAHASAN

Efek Pemberian DTLF dan STZ terhadap Kadar SOD dan MDA Jantung

Pada kelompok diabetes melitus didapatkan penurunan kadar SOD jantung secara signifikan sekitar 40% dibandingkan kelompok kontrol normal. Hal ini disebabkan oleh induksi DTLF dan STZ. Pemberian diet tinggi lemak dalam jumlah besar dan durasi lama akan meningkatkan *Free Fatty Acid* (FFA). Peningkatan FFA dapat meningkatkan *diacylglycerol* (DAG) dan *Protein Kinase C* (PKC). PKC adalah enzim yang memfosforilasi serin pada reseptor insulin dan Insulin Receptor Substrat (*IRS-1* dan *IRS-2*). Fosforilasi serin pada *IRS-1* dan *IRS-2* dapat menyebabkan penurunan kemampuan *IRS* untuk mengaktivasi *PI 3 kinase*, sehingga menyebabkan kinerja GLUT menurun dan reseptor insulin signalling berkurang. Sehingga terjadi resistensi insulin. Diet tinggi lemak dapat menyebabkan obesitas yang merupakan faktor risiko terjadinya diabetes melitus^{14,15}.

Induksi diet tinggi fruktosa (DTF) memicu metabolisme fruktosa oleh hepar. Penyerapan fruktosa dari intestinal masuk ke dalam vena porta hepatica dibantu oleh glukosa transporter 5 (GLUT-5) kemudian masuk ke dalam hepatosit melalui GLUT-2. Di dalam hepatosit akan diubah menjadi *fruktosa 1-fosfat* oleh enzim *fruktokinase*, kemudian oleh enzim *aldolase B* diubah menjadi *triose fosfat*. Penumpukan triose fosfat menstimulasi sintesis glikogen dan asam lemak dari karbon pada fruktosa melalui jalur metabolik *de novo lipogenesis*. Pembentukan asam lemak dari proses *de novo lipogenesis* yang berlebihan dapat menurunkan sensitivitas insulin sehingga terjadi resistensi insulin. Resistensi insulin memicu kondisi hiperglikemia. Kondisi ini menyebabkan sel β pankreas memproduksi insulin lebih banyak. Keadaan ini menyebabkan sel β pankreas mengalami fatigue dan menurunkan sekresi insulin¹⁴.

Pada pemberian streptozocin (STZ) menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas sehingga menurunkan sintesis dan sekresi insulin¹⁶. Penurunan sekresi insulin memicu terjadinya hiperglikemi. STZ bekerja melalui pengalihan gugus metil dari STZ ke molekul DNA menghasilkan alkilasi DNA yang mengakibatkan kerusakan sel β pankreas¹⁶. Kerusakan DNA akibat STZ mengaktivasi *poly ADP-ribose polimerase-1* (PARP-1) dan mengakibatkan penekanan NAD⁺ seluler, sehingga menurunkan jumlah ATP dan menyebabkan kematian sel-sel β pankreas. Akhirnya terjadi penurunan sintesis insulin¹⁷. Keadaan

resistensi insulin dan penurunan sintesis insulin berperan terhadap keadaan hiperglikemia. Hal ini sesuai dengan peningkatan KGDP pra perlakuan atau post induksi DTLF dan STZ yang meningkat pada kelompok KDM dan herbal.

Hiperglikemi pada DM akan meningkatkan Reactive Oxygen Species (ROS). Peningkatan radikal bebas memicu *superoxide dismutase* (SOD) untuk mengkatalisis radikal anion superoksida sehingga terjadi penurunan kadar SOD⁶. SOD adalah suatu antioksidan endogen yang bekerja menghambat kerusakan oksidatif akibat radikal anion superoksida²⁸. SOD dikenal sebagai antioksidan enzimatis dengan kofaktor ion logam seperti tembaga (Cu), seng (Zn), dan mangan (Mn). SOD berfungsi sebagai katalisator reaksi dismutasi dari anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Hidrogen peroksida dapat berubah menjadi radikal hidroksil dengan bantuan Fe (reaksi fenton). SOD berada didalam sitosol dan mitokondria⁶.

Pada kelompok diabetes melitus didapatkan peningkatan kadar MDA jantung secara signifikan sekitar 80% dibandingkan kelompok kontrol normal. Induksi DTLF dan STZ akan memicu terjadinya hiperglikemia dan akan meningkatkan pembentukan radikal bebas seperti penjelasan sebelumnya. Peningkatan radikal bebas tanpa diimbangi dengan antioksidan di dalam tubuh menimbulkan stres oksidatif⁵. Keadaan stress oksidatif memicu peroksidasi lipid oleh radikal hidroksil dan menghasilkan produk *malondialdehyde* (MDA)¹⁹.

MDA merupakan produk hasil dari peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid merupakan penyatuan radikal bebas hasil dari reaksi fenton hidrogen peroksida yaitu radikal hidroksil dengan asam lemak tak jenuh ganda atau PUFA yang mengandung ikatan rangkap yang diselingi metilen. Peroksidasi lipid adalah suatu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas secara terus-menerus dan memicu peroksidasi lebih lanjut sehingga berpotensi sangat merusak¹⁸.

Pada kondisi fisiologis, jantung membutuhkan ATP untuk memompa darah. ATP dihasilkan dari proses respirasi aerob di mitokondria. Proses respirasi aerob melalui tahap fosforilasi oksidatif menghasilkan produk sampingan berupa radikal bebas. Dalam kondisi fisiologis radikal bebas mampu dinetralkan oleh antioksidan dalam endogen²⁸.

Kadar SOD Jantung Tikus Model Diabetes Setelah Diberikan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 - 800 mg/kgBB dapat menghambat penurunan kadar SOD jantung tikus model DM. Efek tersebut berhubungan dengan kandungan zat aktif yang berperan sebagai antidiabetik dan antioksidan.

Mekanisme secara tidak langsung dalam menghambat penurunan SOD dengan mekanisme

antidiabetik. Potensi antidiabetik pada ekstrak etanol daun gedi merah diperankan oleh senyawa aktif antara lain alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin^{7,22}. Senyawa alkaloid bekerja dengan mekanisme regenerasi sel β pankreas, sehingga meningkatkan insulin dan memperbaiki kondisi hiperglikemia⁷. Senyawa flavonoid berperan sebagai antidiabetik melalui mekanisme peningkatan sensitivitas reseptor insulin pada sel otot, hepar, dan jaringan adiposa⁷. Pada penelitian Pan, *et al.* 2017, senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun gedi merah antara lain hyperoside, isoquercitrin, dan rutin. Saponin memperbaiki kondisi hiperglikemia dengan cara menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim saluran pencernaan yang dapat mengubah karbohidrat menjadi glukosa^{7,22}. Tanin berfungsi sebagai astrigen yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi²². Potensi antidiabetik dari daun gedi merah terbukti dengan penurunan KGDP pasca perlakuan yang menurun pada kelompok pemberian herbal EEDGM 200 - 800 mg/kgBB. Inhibisi dari keadaan hiperglikemia akan menekan produksi radikal bebas sehingga menekan penggunaan SOD sebagai penetral anion superoksida sehingga menghambat penurunan kadar SOD jantung. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Marcedes (2017) bahwa ekstrak etanol daun gedi merah memiliki potensi mengendalikan peningkatan kadar glukosa darah pasca induksi DM²², sehingga menghambat penurunan kadar SOD jantung.

Selain mengendalikan hiperglikemia, zat aktif dari ekstrak etanol daun gedi merah bekerja sebagai antioksidan yang merupakan mekanisme langsung dalam menghambat penurunan SOD. Senyawa aktif polifenol berperan sebagai antioksidan yang mampu mengurangi stres oksidatif dengan mendonorkan atom hidrogen dari kelompok atom hidroksil (OH-) kepada anion superoksida, reaksi ini menghasilkan senyawa baru yang lebih stabil^{7,23}. Senyawa flavonoid, saponin dan polifenol juga dapat bersifat sebagai antioksidan yang bekerja sebagai *scavenger* radikal hidroksil dan superhidroksil, sehingga menurunkan jumlah radikal bebas^{7,22,26}. Penurunan radikal bebas akan menekan penggunaan antioksidan endogen seperti SOD jantung, sehingga kadar SOD dapat dipertahankan. Senyawa flavonoid juga mampu bekerja dengan cara meningkatkan kemampuan ekspresi antioksidan endogen seperti SOD, katalase dan glutathione peroksidase²⁹. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Nobertson et al, 2018 bahwa kandungan senyawa aktif ekstrak etanol daun gedi merah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi²⁵.

Pada penelitian ini, tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan pada kadar SOD perlakuan EEDGM 200 - 800 mg/kgBB. Hal ini diduga karena ekstrak etanol daun gedi merah mengandung beberapa zat aktif yang memiliki

aktifitas berbeda sehingga pemberian dosis yang berbeda tidak menunjukkan efek yang berbeda. Akibatnya, efek perbedaan dosis tidak terlihat secara signifikan⁷. Perbedaan dosis EEDGM tidak memberikan efek yang berbeda diduga karena lama pemberian EEDGM yang tergolong singkat atau dosis yang kurang serta interval antar dosis herbal terlalu sempit.

Kadar MDA Jantung Tikus Model Diabetes Setelah Diberikan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah

Pemberian ekstrak etanol daun gedi merah pada penelitian ini dapat menghambat peningkatan kadar MDA jantung tikus model DM. Efek tersebut berhubungan dengan kandungan zat aktif yang berperan sebagai antidiabetik dan antioksidan.

Kandungan senyawa aktif dari daun gedi merah berperan secara tidak langsung dalam menghambat peningkatan kadar MDA dengan memperbaiki keadaan hiperglikemia, sehingga menghambat terbentuknya radikal bebas seperti yang dijelaskan sebelumnya. Keadaan ini menghambat terjadinya stres oksidatif sehingga tidak terjadi peroksidasi lipid akibat radikal bebas yang menghasilkan MDA^{7,19}.

Mekanisme langsung dari senyawa aktif ekstrak etanol daun gedi merah sebagai antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses peroksidasi lipid yang berperan dalam proses produksi MDA⁷. Kekuatan aktivitas antioksidan bergantung pada jumlah dan posisi dari gugus -OH yang terdapat pada molekul. Semakin banyak gugus -OH, maka aktivitas anti radikalnya semakin tinggi sehingga mampu menurunkan kadar MDA lebih kuat²¹.

Flavonoid, saponin dan polifenol memiliki efek antioksidan yaitu dengan mekanisme menangkalkan radikal hidroksil dan superhidroksil^{7,22,26}. Sehingga menghambat terjadinya peroksidasi lipid dan menghambat peningkatan MDA. Flavonoid juga berperan sebagai pengkelat ion Fe^{2+} . Ion Fe^{2+} sangat efektif sebagai prooksidan dan dapat menginisiasi peroksidasi lipid. Interaksi ion Fe^{2+} dengan hidrogen peroksida pada sistem biologi dapat membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif. Proses ini dapat ditunda dengan mengkelat ion Fe^{2+} dan menghambat terjadinya peroksidasi lipid sehingga produk MDA tidak dihasilkan²³. Zat aktif dari ekstrak etanol daun gedi merah termasuk dalam antioksidan eksogen yang berperan untuk menangkalkan radikal bebas⁶. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Prawira et al, 2015 bahwa kandungan senyawa aktif ekstrak etanol daun gedi merah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi yang dapat menurunkan kadar MDA²⁵.

Pada penelitian ini, pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dosis 200 mg/kgBB – 800 mg/kgBB berbeda signifikan dalam menghambat peningkatan kadar MDA jantung tikus model DM. Dilihat dari nilai rerata, semakin tinggi dosis yang diberikan maka dapat menghambat peningkatan

MDA semakin kuat. Hal ini sesuai dengan teori farmakologi, yaitu semakin tinggi dosis maka semakin berefek.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian dan pembahasan di atas maka dapat ditarik kesimpulan bahwa pemberian ekstrak etanol daun gedi merah dapat menghambat penurunan kadar SOD jantung dan menghambat peningkatan kadar MDA jantung tikus model DM

SARAN

1. Melakukan penelitian terkait kandungan zat aktif daun gedi merah.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan metode *in silico* untuk mengetahui mekanisme kerja zat aktif yang terkandung dalam herbal uji.
3. Melakukan penelitian menggunakan variasi dosis dan waktu yang berbeda.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orangtua Mahasiswa (IOM) dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang karena telah membantu pendanaan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jia, Guanghong; Hill, Michael A.; Sowers, James R. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity. *Circulation research*, 2018, 122.4: 624-638.
2. Einarson, Thomas R., et al. Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007–2017. *Cardiovascular diabetology*, 2018, 17.1: 83.
3. Gulsin, Gaurav S.; Athithan, Lavanya; Mccann, Gerry P. Diabetic cardiomyopathy: prevalence, determinants and potential treatments. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 2019, 10: 2042018819834869.
4. Liu, Quan; Wang, Shudong; Cai, Lu. Diabetic cardiomyopathy and its mechanisms: role of oxidative stress and damage. *Journal of diabetes investigation*, 2014, 5.6: 623-634.
5. Li, Sha, et al. Insights into the role and interdependence of oxidative stress and inflammation in liver diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016.
6. Nimse, Satish Balasaheb; Pal, Dilipkumar. Free radicals, natural antioxidants, and their

- reaction mechanisms. *Rsc Advances*, 2015, 5.35: 27986-28006.
7. Tandil, Joni, et al. Efektivitas Ekstrak Daun Gedi Merah terhadap Glukosa Darah, Malondialdehid, 8-Hidroksi-Deoksiguanosin, Insulin Tikus Diabetes. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 2016, 3.4: 264-276.
 8. Nurfadilah, Lianda Destrin; Nurainiwati, Sri Adilla; Agustini, S. M. Pengaruh pemberian minyak deep frying terhadap perubahan histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar). *Saintika Medika: Jurnal Ilmu Kesehatan dan Kedokteran Keluarga*, 2017, 9.1: 54-58.
 9. Fattah, Yusuf R., et al. Identifikasi Barcode Tumbuhan Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. medik) dan Gedi Hijau (*Abelmoschus moschatus*) Berdasarkan Gen matK. *Jurnal MIPA*, 2014, 3.2: 120-124.
 10. Lin-Lin, W. U., et al. In vivo and in vitro antiviral activity of hyperoside extracted from *Abelmoschus manihot* (L.) medic. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28.3: 404-409.
 11. Murwani, Sri; Ali, Mulyohadi; Muliarta, Ketut. Diet aterogenik pada tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar) sebagai model hewan aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2013, 22.1: 6-9.
 12. Xiang, Xuesong, et al. Dosage of streptozocin in inducing rat model of type 2 diabetes mellitus. *Wei sheng yan jiu= Journal of hygiene research*, 2010, 39.2: 138-142.
 13. Tandil, J., et al. Test Of Ethanol extract Red Gedi Leaves (*Abelmoschus Manihot* (L.) Medik) In White Rat (*Rattus Norvegicus*) Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal Of Sciences*, 2016, 30.4: 84-94.
 14. Boden, Guenther; Laakso, Markku. Lipids and glucose in type 2 diabetes: what is the cause and effect?. *Diabetes care*, 2004, 27.9: 2253-2259.
 15. Wulansari, Devyani Diah; Wulandari, Devyana Dyah. Pengembangan Model Hewan Coba Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 dengan Induksi Diet Tinggi Fruktosa Intragastrik. *MPI (Media Pharmaceutica Indonesiana)*, 2018, 2.1: 41-47.
 16. Nugroho, A. E. Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*, 7(4), 378-382. (2006).
 17. Ghasemi, Asghar; Khalifi, S.; Jedi, S. Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes. *Acta Physiologica Hungarica*, 2014, 101.4: 408-420.
 18. El-Beltagi, Hossam S.; Mohamed, Heba I. Reactive oxygen species, lipid peroxidation and antioxidant defense mechanism. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2013, 41.1: 44-57.
 19. Ayala, Antonio; Muñoz, Mario F.; Argüelles, Sandro. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2014, 2014.
 20. Prawira, Juan Aw. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Heksana dari Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot*). *Jurnal MIPA*, 2015, 4.1: 5-9.
 21. Adyitia, Asri; Untari, Eka Kartika; Wahdaningsih, Sri. Efek ekstrak etanol daun *Premna cordifolia* terhadap malondialdehid tikus yang dipaparkan asap rokok. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 2016, 1.2: 104-115.
 22. Mercedes, Agustina. Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Daun Gedi Merah Dan Daun Semak Bunga Putih Tikus Induksi Streptozotocin. *Farmakologika: Jurnal Farmasi*, 2017, 14.2: 159-166.
 23. Teroreh, Mercy, et al. Ekstraksi daun gedi (*Abelmoschus Manihot* L.) secara sekuensial dan aktivitas antioksidannya. *Agritech*, 2015, 35.3: 280-287.
 24. Kalaivanam, K. N.; Dharmalingam, Mala; Marcus, Sara Rani. Lipid peroxidation in type 2 diabetes mellitus. *Int J Diab Dev Ctries*, 2006, 26.1: 30-32.
 25. Nobertson, Ronald; Indah, Novita Puspita; Kenta, Yunlis Silintowe. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus Manihot* (L.)) Palu Sulawesi Tengah. *Farmakologika: Jurnal Farmasi*, 2018, 15.1: 63-71.
 26. Waris, Rida; Am, Esti Dewi Pratiwi; Najib, Ahmad. Radical scavenging activity of leaf extract of edible *Hibiscus* (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) using 1, 1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil (DPPH). *International Journal of PharmTech Research*, 2016, 9.6: 343-347.
 27. Durruty, Pilar; Sanzana, María; Sanhueza, Lilian. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. In: *Type 2 Diabetes-From Pathophysiology to Modern Management*. IntechOpen, 2019.
 28. Moris, Demetrios, et al. The role of reactive oxygen species in myocardial redox signaling and regulation. *Annals of translational medicine*, 2017, 5.16.
 29. Ambu, Yuliatika. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Gedi Merah (*Abelmoschus Manihot* L. Medik) Terhadap Penurunan Kadar Bun Dan Kreatinin Serum Pada Tikus Diabetes Nefropati Yang Diinduksi Streptozotocin-Nikotinamid. 2018. PhD Thesis. Universitas Setia Budi Surakarta.
 30. Pan, Xinxin, et al. Dynamic changes of flavonoids in *Abelmoschus manihot* different organs at different growth periods by UPLC-MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 2017, 1059: 21-26.